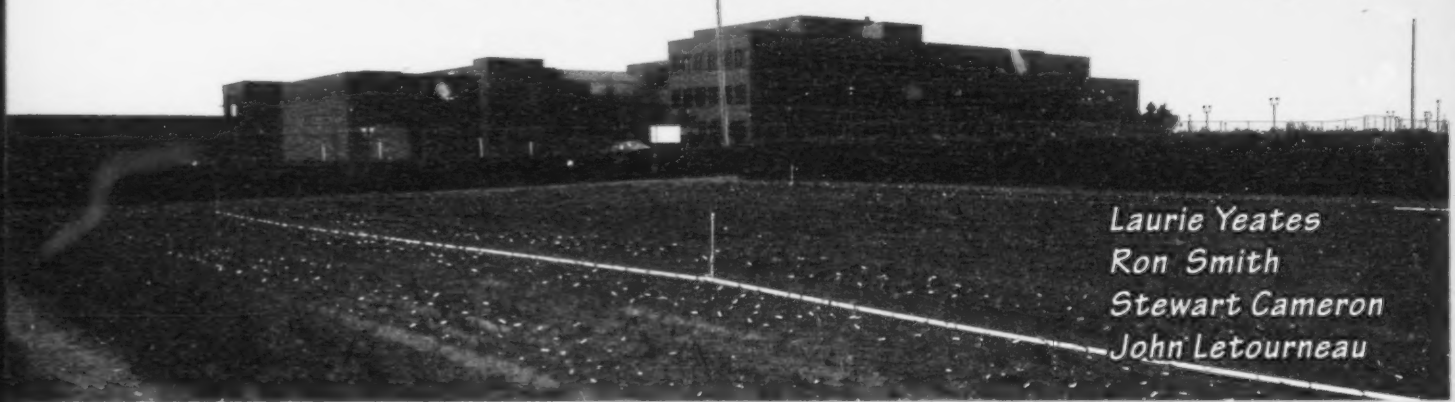
CFS CANADIAN FOREST SERVICE
www.atl.cfs.nrcan.gc.ca

Recommended procedures for rooting ground hemlock (*Taxus canadensis*) cuttings



Laurie Yeates
Ron Smith
Stewart Cameron
John Letourneau

Information Report M-X-219E

Natural Resources Canada
Ressources naturelles Canada
Canada

Recommended Procedures for Rooting Ground Hemlock (*Taxus canadensis*) Cuttings

by

L.D. Yeates, R.F. Smith, S.I. Cameron, and J. Letourneau

Information Report M-X-219E

Natural Resources Canada
Canadian Forest Service - Atlantic Forestry Centre
P.O. Box 4000,
Fredericton, New Brunswick,
CANADA

2005

© Her Majesty the Queen in Right of Canada 2005

ISSN 1195-3799
ISBN 0-662-41218-4
Catalogue No. Fo103-2/219E

Additional copies of this publication are available in limited quantities at no charge from:

Canadian Forest Service - Atlantic Forestry Centre
P.O. Box 4000
Fredericton, N.B. Canada E3B 5P7
Tel.: (506) 452-3500
Fax: (506) 452-3525

Photocopies or microfiches of this publication may also be purchased from:

Micromedia Ltd.
240 Catherine St., Suite 305
Ottawa, ON K2P 2G8
Tel: (613) 237-4250
Toll free: 1-800-567-1914
Fax: (613) 237-4251

Une copie française de ce rapport est disponible sur demande.

Editing, design and layout: C.M. Simpson, ELS
Cover design: D.A. Perry

Library and Archives Canada Cataloguing in Publication

Recommended procedures for rooting ground hemlock (*Taxus canadensis*) / L. Yeates ... [et al.].

(Information report ; M-X-219E)
Issued also in French under title: Techniques recommandées pour la mise en culture de boutures d'if du Canada (*Taxus canadensis*).
Includes bibliographical references: p. Available also on the Internet.
Includes abstract in French.
ISBN 0-662-41218-4
Cat. no.: Fo103-2/219E

1. Yew—Cuttings.
2. Yew—Propagation.
I. Yeates, L. D., (Laurie D.).
II. Atlantic Forestry Centre.
III. Series: Information report (Atlantic Forestry Centre) M-X-219E.

SD397 Y46 R42 2005 634.9'7596 C2005-980219-7

106-00633/

Abstract

Methods for greenhouse propagation of rooted cuttings of Canada yew (*Taxus canadensis*) are described. Specific details on the collection and handling of cuttings, greenhouse culture, and post-rooting care of plants are provided. The equipment, facilities, and supplies required at all stages of production are listed. A brief description of ongoing research focusing on optimizing existing protocols for rooting dormant cuttings is also given.

Résumé

Des méthodes de multiplication par boutures de l'if du Canada (*Taxus canadensis*) en serre sont décrites, en donnant les détails de la collecte et de la manipulation des boutures, de la culture en serre et des soins apportés aux plants après leur enracinement. Les installations et le matériel requis à toutes les étapes de production sont énumérés. En outre, la recherche en cours visant à optimiser les protocoles pour l'enracinement des boutures dormantes est brièvement décrite.

Table of Contents

	Page
Abstract	3
Introduction	7
Striking of Cuttings	7
When to take the cuttings	7
Size of cutting	7
Where to make your cut	7
When to strike	8
Media	8
How to strike	9
General Greenhouse Culture: Post-striking Care of the Cuttings	12
Misting	12
Heat and light	12
Sanitation	13
Overwintering the First Year	14
Spring and Summer of Year Two	14
Frozen Overwinter Storage of 1-year-old Cuttings	14
Summary of Ongoing Research	15
Additional nursery trials	15
Acknowledgments	15
Literature Cited	17
Fungicides	17

Introduction

Paclitaxel (Taxol®), initially found in the bark of the Pacific yew (*Taxus brevifolia*) is one member of a class of chemicals called terpenoids that are produced in species of the yew (*Taxus*) family. Over the past 10+ years, paclitaxel and some of the other "taxanes" have shown promise for use against more than 20 cancer and non-cancer diseases, and according to the U.S. National Institute of Health, paclitaxel is the most important anti-cancer drug to have been marketed in the last 15 years. In 1997, the Canadian Forest Service – Atlantic Forestry Centre (CFS-AFC) initiated a research program to "domesticate" ground hemlock (*T. canadensis*) for the production of taxanes. The domestication project is being used to convert ground hemlock into a nursery crop by a) selecting individuals from throughout the species' range, b) testing and screening to select varieties with a high taxane content, and c) implementing a large-scale production program for these "elite" plants. Research is ongoing in five interdependent yet complementary areas: cultivar selection, nursery propagation with rooted cuttings, intensive nursery culture, tissue culture, and methods to increase taxane yields through culture. What follows is an overview of the progress made to date on nursery propagation using rooted cuttings.

Striking of Cuttings

When to take the cuttings

Cuttings can be rooted at almost any time of the year. However, costs and rooting success may vary significantly depending on the time of the year. Striking cuttings using elongating shoots (e.g., collected in May–July) can be problematic both because the actively growing new growth is susceptible to breakage, and because maintaining growing conditions within the desired temperature and humidity ranges in a greenhouse during the summer months can be difficult. The following recommendations are for dormant cuttings struck in the fall or early winter.

Size of cutting

Cuttings of almost any size can be rooted. The size you choose will depend on the size and type of container you use. Under our growing regime, there must be adequate space to allow for 1 year's growth in the container. For *multipot* 67 (Ropak Canada Inc., Springhill, N.S.) containers (65 cm^3 volume), we recommend a cutting that is 7.5–10 cm in length (3–4 inches).

Where to make your cut

The best rooting occurs at growth nodes (Fig. 1). Making the cut at a node is more important than making a cutting of a predetermined length. The two most important considerations are to ensure that you make the cut at the correct spot, and that the cutting is of an appropriate size for the container.

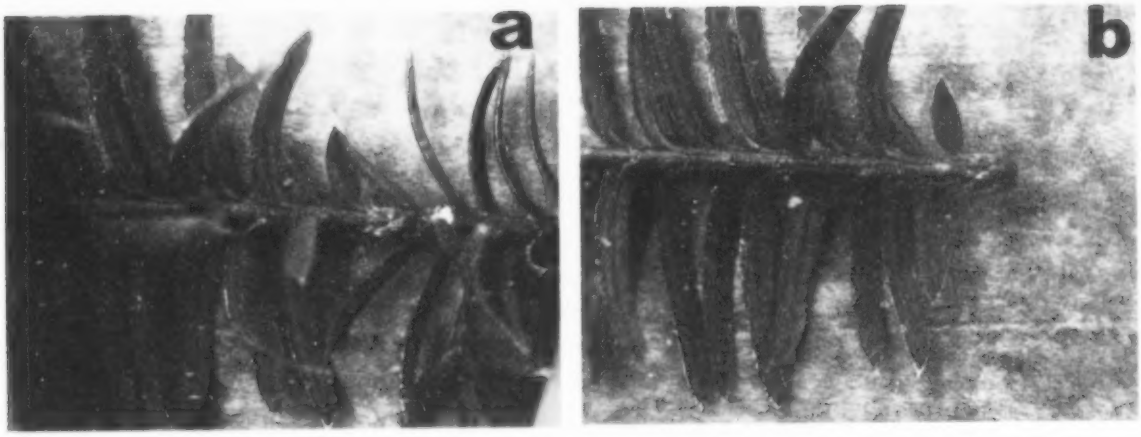


Figure 1. a) A 2-year-old shoot with a node, and b) a close-up of the cut end. (*Photographs: J. Letourneau.*)

When to strike

It will normally take a minimum of 12–16 weeks for cuttings to callus and start to produce roots. The greenhouse temperature should be maintained at 22–25°C day and 18°C night during this initial rooting period. The later in the fall you strike the cuttings, the higher your heating costs will be. Therefore, we recommend you strike your cuttings before October 1.

Media

A variety of media are available. The following recommendation is what we routinely use at CFS-AFC.

We use a 2:1 peat:vermiculite mix composed of a medium-to-coarse horticulture vermiculite and a coarse peat. At this time, we do not incorporate any fertilizer into our potting mix. NOTE: A 3:1 mixture may lack adequate aeration (Doug Beaton, Nova Scotia Department of Natural Resources, *personal communication*).

If you make your own mix, first break the peat moss up in a mixer, shredding it for the least amount of time possible, as excessive shredding may destroy the fibers, and result in reduced air and water drainage in the final media mix. Add the vermiculite to the shredded peat. Water should be added to the mixer when mixing the peat and vermiculite.

When filling the containers, it is important to ensure that the cells have a uniform density. We use a vibrating belt system, which has the added advantage of eliminating air spaces within the cells.

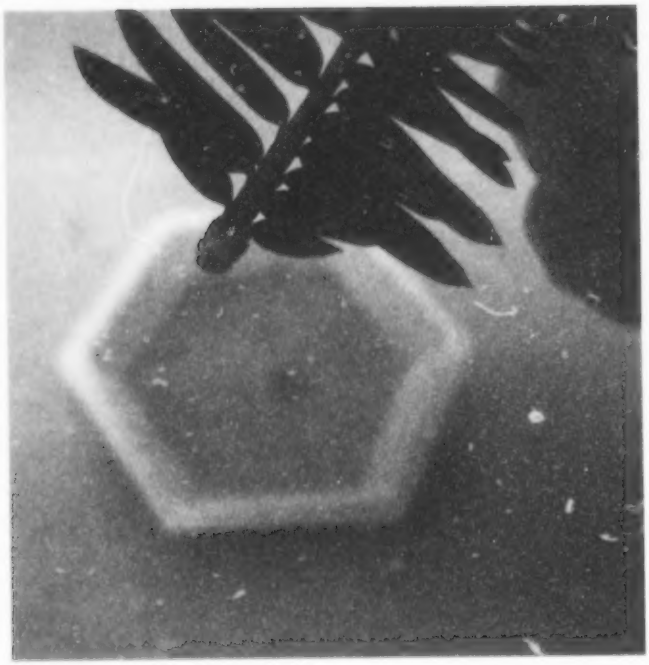


Figure 2. The end of the cutting is dipped into a rooting compound and the excess shaken or tapped off. (*Photograph: J. Letourneau.*)

After filling, place the trays in the greenhouse and water thoroughly. Media should be moist but not saturated when the cuttings are struck. Saturated conditions inhibit rooting and root development, and can increase the chances of basal rot.

How to strike

We routinely dip the cuttings in a rooting hormone such as Seradex #3 (3-Indolybutyric acid 0.8% manufactured by May & Baker (Canada) Ltd., Montreal, QC). Take a small amount of the rooting hormone and place it on tinfoil or in a small dish. Dip the end of the cutting into the hormone (Fig. 2), give the cuttings a light tap with your finger to shake off excess powder,[1] and then insert the cutting into the cavity.

There are a number of commercially available rooting compounds suitable for use on yew. In general, callus formation and early root formation are enhanced by using a rooting compound, but we have not found a significant improvement in rooting success for either easy- or difficult-to-root clones (unpublished data).

---

[1] NOTE: ***Do not*** *return unused rooting compound to its original container because you may contaminate the rooting compound or introduce moisture into the powder.*

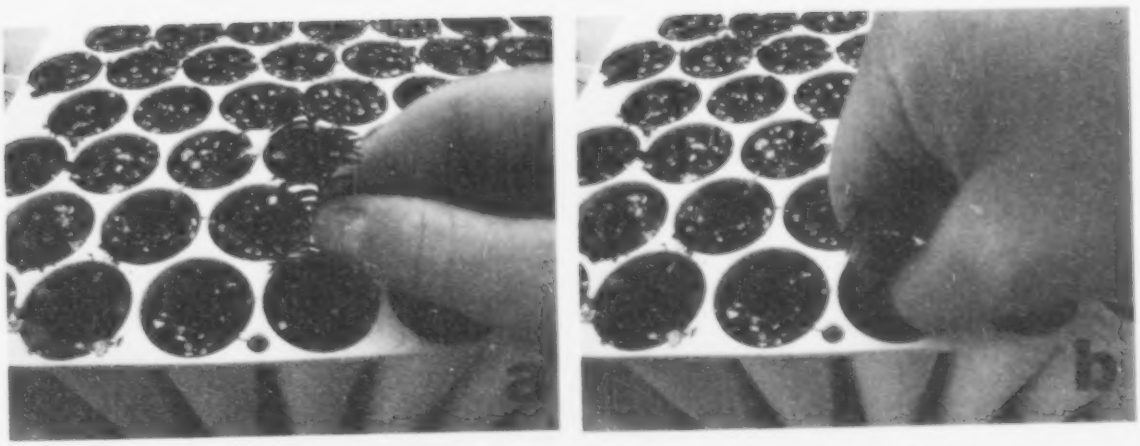


Figure 3. The cutting is a) placed into pre-drilled holes in the cavity, and b) the medium is pinched around the base to ensure good contact between the cutting and the medium. (*Photographs: J. Letourneau.*)

We use two methods for striking the cuttings: with and without pre-drilling a hole before striking the cutting.

Without pre-drilled hole. Take cutting and insert it directly into the medium to a depth of 2.4–4 cm (1–1.5 inches).

With pre-drilled hole. The depth of the hole should be slightly less than the amount of the cutting to be inserted. The diameter of the hole should be approximately the same as that of the cutting. A simple method is to use a sharpened pencil to "drill" the holes.

It is not necessary to remove the needles from the cutting. Insert cutting to a depth slightly greater than the depth of the hole, thereby ensuring good contact between the end of the cutting and the rooting medium. Pinch the medium around the cutting (Fig. 3).

Regardless of the method chosen (with or without pre-drilled holes), ensure that the end of the cutting makes good contact with the rooting medium.

The medium will usually continue to settle after the cuttings have been struck. Therefore, the cuttings must be inserted AT LEAST the minimum recommended depth (3.0–4.0 cm). If this is not done, after the medium has settled, the end of the cutting may not be embedded sufficiently to support the cutting. When this happens, rooting success will decrease. Although we have not examined this in detail, planting the cuttings deep (5 cm or more) does not appear to have a negative effect on rooting success.

Figure 4. Grit is applied to help retain moisture, limit algae growth, and reduce the establishment of weed seeds. (*Photograph: J. Letourneau.*)

After cuttings are struck, cover the cells with a layer of light grit (Fig. 4). This helps retain moisture, limits algae growth, and reduces the establishment of weed seeds. We routinely use calcitic grit because it releases some calcium. This is important for us: given our particular water source and medium, plants in our greenhouse require the supplemental calcium. Our objective is to ensure that the medium is at a pH between 5.5–6.

General Greenhouse Culture: Post-Striking Care of the Cuttings

Misting

Maintain the relative humidity (RH) in the greenhouse at or above 70%. We use a Micro-cool™ (Nortec Industries, Inc., Palm Springs, CA) fogging system to accomplish this. Although misting also helps maintain RH in the greenhouse, its main purpose is to reduce plant desiccation by maintaining a fine layer of moisture on the needle surfaces. We try not to maintain them so wet that water routinely runs off the needles. This is best accomplished by using a fine nozzle, such as a Tee Jet 800067 (John Brooks Co. Ltd., Mississauga, ON). In our system, these nozzles are put on a watering cart that passes (double pass) over the crop every 2 h. This misting allows fine water droplets to form on the foliage, thus preventing desiccation, but not wetting the medium. The frequency at which misting is required will be determined by your greenhouse conditions, and will be greatly influenced by outdoor weather conditions. During cool, cloudy weather, less frequent misting is required, whereas on hot and sunny days, five or six mistings a day may be needed to maintain the RH at desired levels. In our greenhouse system, we mist every 2 h through the day and 4 h through the night.

Before root formation, the main source of water loss from the medium occurs through evaporation. Good callus formation and subsequent root formation and growth will occur when the medium is at, or slightly below, field capacity. Therefore, be very careful not to overwater during the rooting phase. When irrigating (watering), always apply sufficient water to drip, i.e., water drips out of the bottom of the trays.

Heat and light

In winter, cuttings root sooner in direct sun, but in summer, shade is required to reduce the light level (approximately 50% of light transmittance) (Phillion *et al.* 1982). There must be sufficient light to sustain some photosynthesis. Optimum range of light is between 300-ft candles to 1200-ft candles for rooting, whereas 1000-watt HID lamps are used for growth. When light levels are reduced by shading, temperatures tend to be lowered, which prevents damage and excessive evapotranspiration. Rooting of the cuttings does not appear to depend on light or the length of the day.

NOTE: We use below-bench heating. It has been well documented in the literature for other species that keeping the medium warm promotes root growth, and yew appears to be no different.

Sanitation

Maintaining high RH and relatively warm temperatures in the greenhouse provides an ideal environment for diseases. Inspect the cuttings regularly for basal rot and other pest and disease problems. Remove infected and dead cuttings so they do not provide a source of infection for other cuttings. Unless a very aggressive manual culling system is used, some form of fungicide schedule will likely be needed. Two of the successful regimes we have used are described below.

1) Weekly schedule of fungicide applications.

   Fungicide was applied weekly, starting right after the cuttings were struck. This was continued until the beginning of the cold treatment, i.e., around the end of December (see section on hardening off). The five fungicides used in the rotation were:

   Benlate™ 50WP (DuPont Canada, ON)
   Maestro™ 80DF (replaces Captan™) (Tomen Agro, Inc., San Francisco, CA, USA)
   Rovral™ (Rhône-Poulenc Canada Inc., ON)
   Thiram™ 80WP (Plant Products Co. Ltd., Brampton, ON)
   Daconil™ 2787 (Fermenta ASC, OH, USA)

   The fungicides must be rotated to ensure that disease-resistant strains do not develop.

2) An alternate fungicide schedule, based on recommendations from Doug Beaton and Brian White (Nova Scotia Department of Natural Resources) has also been used successfully at CFS-AFC.

   The biological fungicide Mycostop® (Biobest Canada Ltd., Leamington, ON) was applied every 3 weeks according to the label recommendations, with intervening applications of Maestro 80DF, e.g., Mycostop at 3 weeks, Maestro 80DF 1 week, Mycrostop at 3 weeks. (Note: in accordance with the label directions, do not apply Mycrostop within 10 days after a Maestro 80DF application.) The main advantage of using this second regime is that Mycostop reportedly lasts 6–9 weeks, whereas chemical fungicide treatments typically must be applied every 7–10 days. Furthermore, although not observed thus far with *Taxus canadensis* in our studies, high fungicide application rates, or repeated application of the fungicide Maestro 80DF, can result in abnormal root development, and may be a root growth inhibitor (White 1983).

   When applying Mycostop, take off all filters and apply with a watering boom, but leave screens on the watering boom.

Overwintering the First Year

The temperature, watering, and light in the greenhouse can be reduced once callus and (or) roots are produced. Not all cuttings will have rooted, as there is considerable variation among genotypes in both the speed and percentage of rooting. Therefore, it will be necessary to examine the cuttings and then "decide" when a sufficient number of the cuttings have reached this stage before beginning to shut the greenhouse down for the first winter.

Gradually (over a 2- to 3-week period) reduce the greenhouse temperature. We typically provide a 7- to 10-week cold period during which the greenhouse is maintained at 5°C. During this period, no supplemental light is provided and the containers are only watered as required.

Spring and Summer of Year Two

Following the cold treatment, start up the greenhouse with the following conditions: 18°C night and 22°C day temperatures, while maintaining RH at 60% and a 16–18 h photoperiod. Begin applying a starter fertilizer (e.g., 11-41-8, Plant Products (Brampton, ON) Forestry Fertilizers with micro nutrients) at a rate of 50 ppm N.

Once most of the cuttings have produced some roots, you may increase the rate of starter to 100 ppm N. However, this decision should be based on the stage of development of YOUR plants. If good callus and root formation occurred in the fall and early spring, shift to a standard grower fertilizer (e.g., 20-8-20) at 100 ppm N rather than increasing the rate of starter fertilizer.

NOTE: At some time in the middle of the growing season, the tips of the cuttings will likely begin to turn yellow. If and when this occurs, increase the grower fertilizer rate to 150 ppm N and maintain this rate until it is time to begin to harden off the cuttings.

Beginning approximately in late July or early August, leach the cuttings for 2 weeks. After leaching, apply a finisher fertilizer (e.g., 8-20-30) at 35 ppm N for 3 more weeks.

Frozen Overwinter Storage of 1-Year-Old Cuttings

One of the techniques used operationally in several conifer nurseries is overwinter frozen storage. Under this regime, conifer seedlings are first "hardened off" using well-established nursery practices. Once the seedlings are shown to be hardy to -20°C, they are then put into plastic bags, boxed, and placed in frozen storage. The advantage of this method is that seedlings can be held dormant in storage considerably longer into the late spring/early summer than plants being held outdoors. Given that yew species are particularly prone to late spring frost damage because of their tendency toward early spring flushes, refining this system for yew species would be of considerable benefit to nurseries by reducing early post-planting frost damage, and extending

the planting season. We have now successfully used this system for 3 years with *T. canadensis*. Although *T. canadensis* cuttings respond well to extended greenhouse culture, they are slow to become dormant, e.g., "shut down." Therefore, careful monitoring, sampling, and testing to confirm that they attain the desired frost hardiness IS A MUST. It will likely take longer for these plants to harden off than for many other conifers.

NOTE: *Taxus* foliage turns a purple to brown color in the fall, similar to young jack pine seedlings.

Summary of Ongoing Research

Most of the research on nursery propagation has focused on reducing the time required to produce a plantable rooted cutting. Initial findings indicate that it is possible to strike *T. canadensis* cuttings early in the fall, and thereby produce plantable cuttings for the following summer. These can then be planted directly into fields or hedges. In addition to reducing the time between when cuttings are struck and when they can be outplanted by 1 year, this system should also result in improved early post-planting performance.

Additional Nursery Trials

Weed control is a significant problem in the nursery, and to date has been accomplished in these studies using manual weeding only, which is both time consuming and expensive. We have now conducted two small-scale herbicide trials in order to provide a cost-effective alternative to manual weeding. *Taxus canadensis* is particularly sensitive to overspray with herbicides such as Vision® (Monsanto Canada, Inc., Mississauga, ON) (glyphosate). After having examined the list of herbicides currently being used on *Taxus* species in commercial nurseries in the United States, we opted to conduct a series of trials using three different herbicides from the current list of products that are registered both for use in Canada and for use on *Taxus* species. Results from these trials will be reported as they become available.

Acknowledgments

The results of numerous rooting trials conducted over the past 8 years have led to the recommendations in this manual. We would like to express our sincere thanks to the following people for technical support over these past years: Shawn Farrell, Dan Flemming, Terry Hay, Fiona McBain-Hogg, Jay Phillips, and Paula Stewart-Leblanc. This publication would not have been possible without their hard work. A special thanks to Joe Lewis, retired CFS-AFC greenhouse manager. More recently, from 2001-2003, we received financial support from Napro BioTherapeutics Inc., Boulder, CO, and since 2002, Chatham Biotec Ltd., Moncton, NB, has provided financial support for this ongoing project.

Literature Cited

Phillion, B.J., de Witt, J., and Bunting, W.R. 1982. Effect of light intensity on rooting juvenile black spruce cuttings. Ontario Ministry of Natural Resources, Nursery Notes No. 82.

White, B. 1983. Production of highland black spruce from cuttings. Nova Scotia Department of Lands and Forests, Forest Technical Note #7

Fungicides

Benlate 50WP (Benomyl 50% CAS #17804-35-2) PCP #11062 (DuPont Canada, Mississauga, ON). Rate 2–3 kg/1000 L/ha.

Maestro 80DF (Captan 80% CAS #133-06-2) PCP #26408 (Tomen Agro Inc., San Francisco, CA, USA). Rate 1.25 kg/1000 L water and apply at a rate of 50–85 L/100 m^2.

Rovral 50W (Iprodione 500 g/kg CAS #36734-19-7) PCP #15213. Rhône-Poulenc Canada Inc., Mississauga, ON). Rate 1.5–2 kg/ha in 1100 L water/ha.

Thiram 80WP (Thiram 80% CAS #137-26-8) PCP #9871 (Plant Products Co. Ltd., Brampton, ON). Rate 250 g/100 m^2.

Daconil 2787 (Chlorothalonil 40.4% CAS #1897-45-6) PCP #15 724 (Fermenta ASC, Mentor, OH, USA). Rate 2.4–4.8 L/100–1000 L/ha.

Printed on
recycled paper
Paper manufactured acid-free

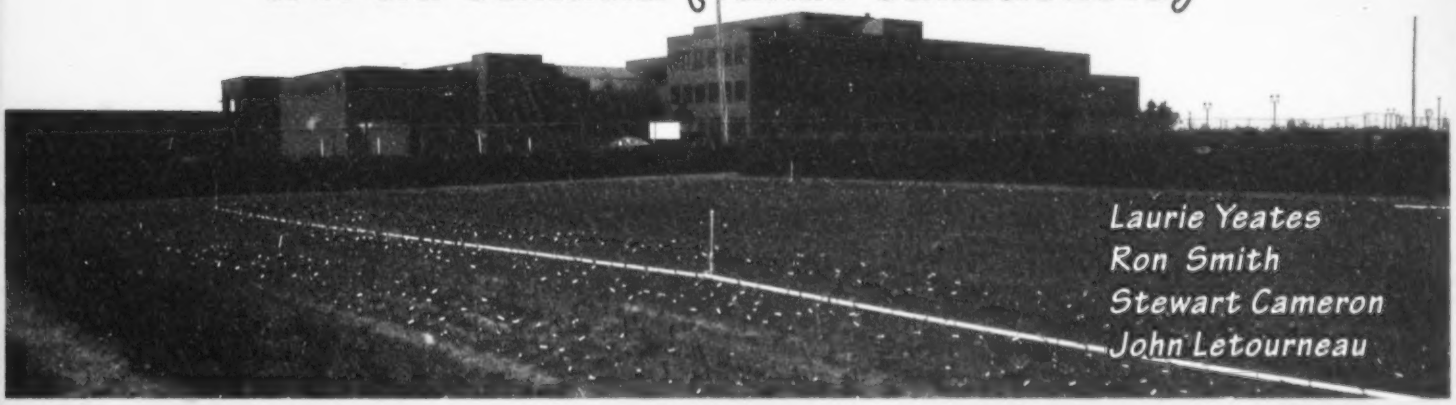
Papier fabriqué sans acide
Imprimé sur du
papier recyclé

PRINTED IN CANADA
IMPRIMÉ AU CANADA

Canada

SCF SERVICE CANADIEN DES FORÊTS
www.atl.cfs.nrcan.gc.ca

Techniques recommandées pour la mise en culture de boutures d'If du Canada (*Taxus canadensis*)



Laurie Yeates
Ron Smith
Stewart Cameron
John Letourneau

Rapport d'information M-X-219F

Ressources naturelles Canada
Natural Resources Canada
Canada

Techniques recommandées pour la mise en culture de boutures d'if du Canada (*Taxus canadensis*)

par

L.D. Yeates, R.F. Smith, S.I. Cameron et J. Letourneau

Rapport d'information M-X-219F

Ressources naturelles Canada
Service canadien des forêts - Centre de foresterie de l'Atlantique
C.P. 4000,
Fredericton (N.-B.)
CANADA

2005

© Sa majesté la Reine du Chef du Canada 2005

ISSN : 1195-3802
ISBN : 0-662-74797-6
Catalogue No. : Fo103-2/219F

Un nombre restreint d'exemplaires de cette publication peut être obtenu sans frais à l'adresse suivante :

Service canadien des forêts - Centre de foresterie de l'Atlantique
C.P. 4000
Fredericton (N.-B.) Canada E3B 5P7
Tél. : (506) 452-3500
Téléc. : (506) 452-3525

Des microfiches ou des copies de cette publication sont en vente chez :

Micromedia Ltée.
240, rue Catherine, bur. 305
Ottawa (ON) K2P 2G8
Tél. : (613) 237-4250
Ligne sans frais : 1-800-567-1914
Téléc. : (613) 237-4251

This report is also available in English.

Rédaction, dessin et production par C.M. Simpson, ELS
Dessin de la couverture par D.A. Perry

Catalogage avant publication de Bibliothèque et Archives Canada

Techniques recommandées pour la mise en culture de boutures d'if du Canada (Taxus canadensis) / par L.D. Yeates ... [et al.].

(Rapport d'information ; M-X-219F)
Publ. aussi en anglais sous le titre : Recommended procedures for rooting ground hemlock (*Taxus canadensis*) cuttings.
Comprend des réf. bibliogr.
Également disponible sur l'Internet.
Comprend une resumé en anglais.
ISBN 0-662-74797-6
No de cat.: Fo103-2/219F

1. If d'Europe—Boutures.
2. If d'Europe—Multiplication
I. Yeates, L. D., (Laurie D.).
II. Centre de foresterie de l'Atlantique.
III. Collection: Rapport d'information (Centre de foresterie de l'Atlantique) M-X-219F

SD397 Y46 R4214 2005 634.9'7596 C2005-980222-7

Résumé

Des méthodes de multiplication par boutures de l'if du Canada (*Taxus canadensis*) en serre sont décrites, en donnant les détails de la collecte et de la manipulation des boutures, de la culture en serre et des soins apportés aux plants après leur enracinement. Les installations et le matériel requis à toutes les étapes de production sont énumérés. En outre, la recherche en cours visant à optimiser les protocoles pour l'enracinement des boutures dormantes est brièvement décrite.

Abstract

Methods for greenhouse propagation of rooted cuttings of Canada yew (*Taxus canadensis*) are described. Specific details on the collection and handling of cuttings, greenhouse culture, and post-rooting care of plants are provided. The equipment, facilities, and supplies required at all stages of production are listed. A brief description of ongoing research focusing on optimizing existing protocols for rooting dormant cuttings is also given.

Table des matières

Page

Résumé 3
Introduction 7
Enracinement des boutures 7
- Quand prélever les boutures ? 7
- Tailles des boutures 7
- Où prélever la bouture ? 8
- Quand enraciner ? 8
- Milieux 8
- Comment enraciner ? 9

Culture générale en serre : soins des boutures mises en serre 12
- Pulvérisation 12
- Chaleur et lumière 12
- Assainissement 13

Survie hiémale la première année 14
Printemps et été de la deuxième année 14
Entreposage hivernal sous le point de congélation des boutures d'un an 15
Résumé des recherches en cours 16
- Autres essais en pépinière 16

Remerciements 16
Bibliographie 16
Fongicides 17

Introduction

Le paclitaxel (Taxol[MD]), d'abord découvert dans l'écorce de l'if occidental (*Taxus brevifolia*) entre dans la catégorie des produits chimiques appelés terpénoïdes qui sont produits chez les espèces de la famille des ifs (*Taxus*). Depuis plus de dix ans, le paclitaxel et certains autres « taxanes » se sont montrés prometteurs pour lutter contre plus de 20 cancers et affections non cancéreuses, et d'après l'U.S. National Institute of Health, le paclitaxel est le médicament anticancéreux le plus important à avoir été commercialisé dans les 15 dernières années. En 1997, le Service canadien des forêts — Centre de foresterie de l'Atlantique (SCF-CFA) a entrepris un programme de recherche visant à « cultiver » l'if du Canada (*T. canadensis*) pour la production de taxanes. Ce projet est utilisé pour cultiver en pépinière l'if du Canada en a) sélectionnant des sujets dans l'ensemble de l'aire de répartition de l'espèce b) réalisant des essais de criblage afin de sélectionner des variétés à teneur élevée en taxanes et c) mettant en œuvre d'un programme de production à grande échelle de ces sujets « d'élite ». Des recherches sont effectuées dans cinq domaines interdépendants mais complémentaires : la sélection de cultivars, la multiplication en pépinière par boutures enracinées, culture intensive en pépinière, culture tissulaire et méthodes culturales d'accroissement de la production de taxanes. Ce qui suit constitue un aperçu des progrès réalisés à ce jour en multiplication en pépinière au moyen de boutures enracinées.

Enracinement des boutures

Quand prélever les boutures ?

L'enracinement des boutures peut être entrepris à presque n'importe quel moment de l'année. Toutefois, les coûts et les résultats peuvent varier considérablement selon la période de l'année. L'enracinement au moyen de pousses en croissance (p. ex. prélevées en mai ou en juin) peut être problématique parce qu'une pousse en croissance est susceptible de se rompre, et parce qu'il peut être difficile durant les mois d'été de maintenir en serre des conditions favorables à la croissance, c.-à-d. de respecter les plages de température et d'humidité cibles. Les recommandations qui suivent visent les boutures dormantes enracinées en automne ou en début d'hiver.

Tailles des boutures

On peut faire prendre racine à des boutures de presque toutes les tailles. La taille choisie dépend de la taille et du type de contenant utilisé. Selon notre régime de croissance, l'espace disponible dans le contenant utilisé doit permettre une croissance d'un an. Dans le cas des Multipots 67 (65 cm^3) (Ropak Canada, Inc., Springhill (N-É)), nous recommandons une bouture de 7,5 à 10 cm de longueur (de 3 à 4 pouces).

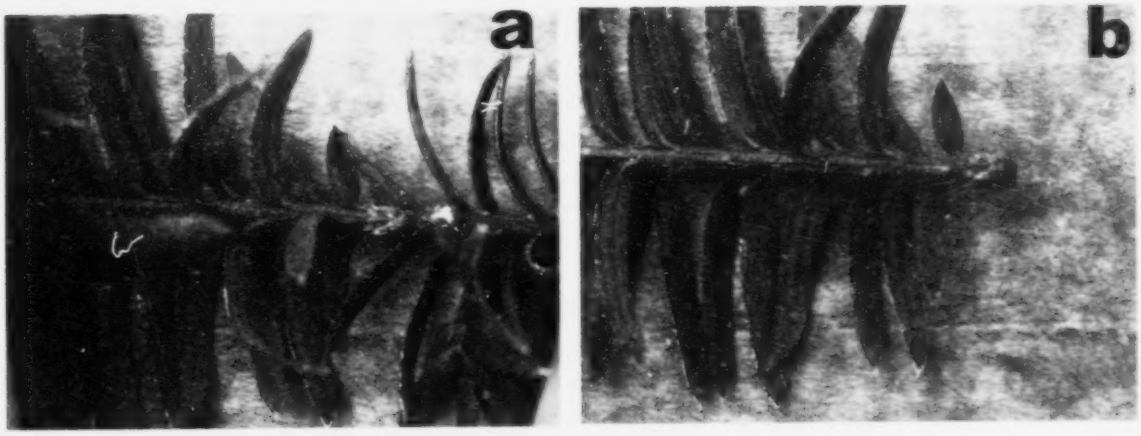


Figure 1. Photographies montrant a) une pousse de deux ans comportant un noeud et b) vue de premier plan de l'extrémité coupée (*photos* J. Létourneau).

Où prélever la bouture ?

Le meilleur endroit pour prélever une bouture est à un noeud de croissance (fig. 1). Il est plus important de couper à un noeud que d'effectuer la coupe à une longueur déterminée. Il est important de s'assurer que la coupe est faite au bon endroit et que la taille de la bouture est appropriée au contenant.

Quand enraciner ?

Il faut normalement au moins de 12 à 16 semaines pour observer la formation d'un cal et pour que les racines commencent à se développer. La température de la serre doit être maintenue entre 22 et 25°C le jour et à 18°C la nuit pendant cette période initiale d'enracinement. Plus vous vous y prenez tard à l'automne, plus vos coûts de chauffage seront élevés. Nous vous recommandons donc d'enraciner vos boutures avant le 1er octobre.

Milieux

Divers milieux sont disponibles. Le SCF-CFA suit normalement la recette suivante :

un mélange 2:1 tourbe : mélange à base de vermiculite constitué de vermiculite pour horticulture de moyenne à grossière et de tourbe grossière. À l'heure actuelle, nous n'ajoutons aucun fertilisant à notre mélange de culture. NOTE : l'aération peut être déficiente dans un mélange 3:1 (p. ex. Doug Beaton, ministère des Richesses naturelles de la Nouvelle-Écosse, *comm. pers.*).

Si vous préparez votre propre mélange, morceler d'abord la tourbe dans un mélangeur, en le broyant le moins longtemps possible : un broyage excessif peut détruire les fibres et conduire à une

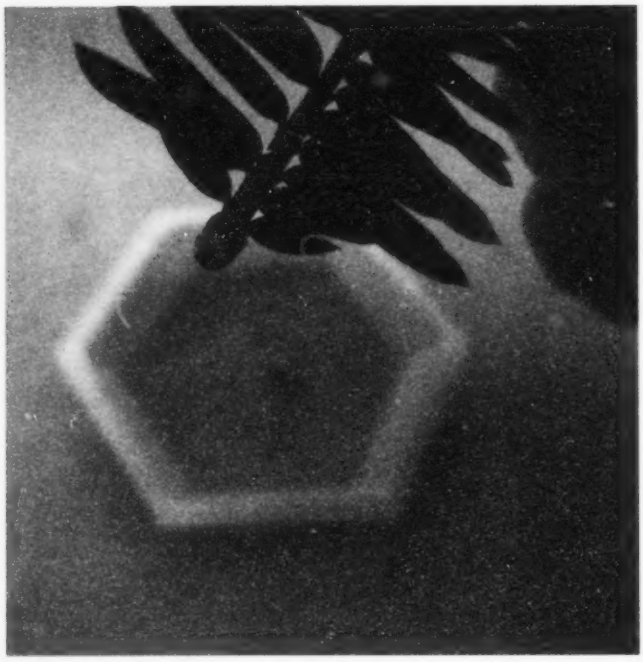


Figure 2. L'extrémité de la bouture est immergée dans une hormone rhizogène, et l'excès d'hormone est éliminé par agitation ou en donnant une petite tape. (*photo* J. Letourneau).

diminution de l'air et du drainage dans le mélange final. Ajouter la vermiculite à la tourbe broyée. Il faut ajouter de l'eau dans le mélangeur lors du mélange de la vermiculite à la tourbe.

Lors du remplissage des contenants (plaques alvéolées), il est important de s'assurer d'obtenir une densité uniforme dans les alvéoles. Nous utilisons à cette fin un système à courroie vibratoire, qui offre l'avantage supplémentaire d'éliminer les vides dans les alvéoles. Une fois les alvéoles remplies, placer les plaques dans la serre et bien arroser. Le milieu doit être humide sans être saturé lorsqu'on y met les boutures. Un milieu saturé peut empêcher le développement des racines et l'enracinement, et peut accroître les risques de pourriture basale.

Comment enraciner ?

Habituellement, nous imprégnons les boutures d'une hormone rhizogène comme la Seradex #3[MD] (acide 3-indolylbutyrique 0,8 % fabriqué par May et Baker (Canada) Ltée, Montréal (QC)). Prendre une petite quantité de cette hormone et la mettre sur une feuille d'étain ou dans une petite assiette. Y faire pénétrer l'extrémité des boutures (fig. 2); donner aux boutures une petite tape avec votre doigt pour éliminer l'excès de poudre,[1] puis insérer les boutures dans les cavités.

---

[1] NOTE : ***NE PAS*** remettre l'hormone rhizogène inutilisée dans son contenant original parce que vous pourriez contaminer ou introduire de la moisissure dans la poudre.

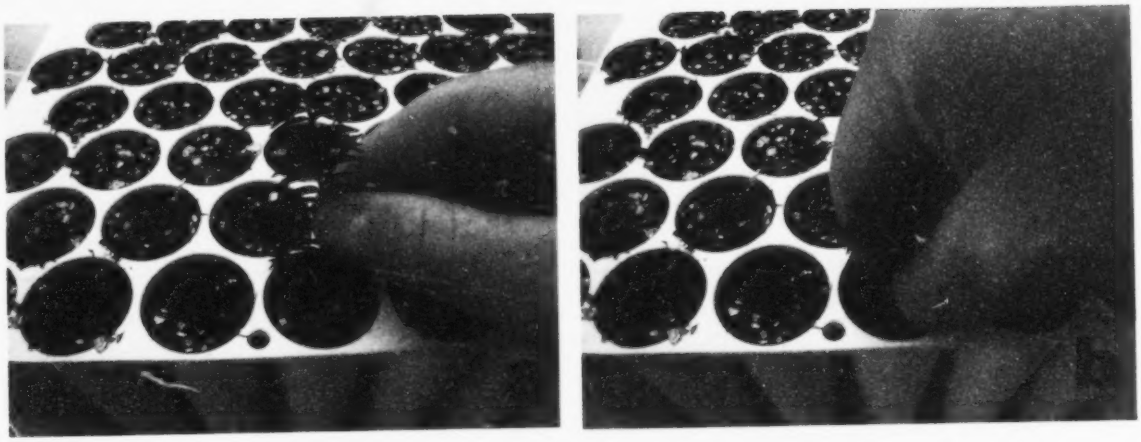


Figure 3. La bouture est a) placée dans un trou préalablement creusé, puis b) le milieu est pincé autour de la base de la bouture afin d'assurer un bon contact entre celle-ci et le milieu. (*photos* J. Létourneau).

Un grand nombre de composés rhizogènes appropriés aux ifs sont disponibles dans le commerce. Généralement, la formation d'un cal et la formation rapide de racines sont favorisées en utilisant un composé rhizogène. Nous n'avons toutefois observé aucune amélioration significative dans les résultats d'enracinement avec les clones facilement ou difficilement enracinables (données non publiées).

Nous utilisons deux méthodes pour l'enracinement des boutures : en creusant ou non un trou avant de mettre la bouture en terre.

Sans trou préalablement creusé. Prendre la bouture et l'insérer directement dans le milieu à une profondeur de 2,4 à 4 cm (de 1 à 1,5 pouces).

Avec trou préalablement creusé. La profondeur du trou doit être légèrement inférieure à la longueur de la bouture qu'on veut y mettre. Le diamètre du trou doit être approximativement le même que celui de la bouture. On peut tout simplement utiliser un crayon aiguisé pour faire le trou.

Il n'est pas nécessaire d'enlever les aiguilles de la bouture. Faire pénétrer la bouture à une profondeur légèrement supérieure à celle du trou afin d'assurer un contact étroit entre l'extrémité de celle-ci et le milieu d'enracinement. Pincer le milieu autour de la bouture (fig. 3).

Peu importe la méthode choisie (avec ou sans trou préalablement creusé), s'assurer que les extrémités des boutures sont en contact étroit avec le milieu d'enracinement.

Normalement, le milieu continu à se tasser après que les boutures y ont été plantées. Par conséquent, les boutures doivent être insérées AU MOINS à la profondeur minimale recommandée

Figure 4. Déposition d'une couverture de grains pour aider à garder l'humidité, limiter la croissance des algues et réduire l'établissement de graines de mauvaises herbes. (*photo* J. Létourneau).

(de 3,0 à 4,0 cm). Si cette profondeur n'est pas respectée, il se peut que l'extrémité des boutures ne soit pas suffisamment enterrée pour que le milieu puisse les supporter. En pareils cas, les résultats d'enracinement sont moins bons. Nous n'avons pas étudié la question en détails, mais il semble que le fait de planter les boutures en profondeur (5 cm ou plus) n'ait pas un impact négatif sur les résultats de l'enracinement.

Une fois que les boutures ont été plantées, recouvrir les alvéoles d'une couche de grains légers (fig. 4) et ce, pour aider à garder l'humidité, limiter la croissance des algues et réduire l'établissement de graines de mauvaises herbes. Nous utilisons normalement des grains calciques parce que cette matière libère du calcium, une substance importante pour nos plants qui, en raison de notre source d'eau et de notre milieu particuliers, ont besoin d'un apport en calcium. Nous avons comme objectif de nous assurer que le pH du milieu se situe entre 5,5 et 6.

Culture générale en serre : Soins des boutures mises en serre

Pulvérisation

Maintenir une humidité relative (HR) d'au moins 70 % dans la serre. Pour ce faire, nous utilisons un système de nébulisation Micro-cool[MD] (Nortec Industries, Inc., Paulm Springs (CA)). Bien que la nébulisation aide à maintenir l'humidité relative dans la serre, sa principale fonction est de réduire la dessication des plants en maintenant une mince couche d'humidité sur les aiguilles. Nous essayons de NE PAS les garder mouillées au point où de l'eau s'écoule systématiquement des aiguilles. La meilleure façon consiste à utiliser une busette d'arrosage, comme la Tee Jet 800067 (John Brooks Co. Ltd., Mississauga (ON)). Avec notre système, les lances d'arrosage sont installées sur une navette d'arrosage qui passe (deux fois) au-dessus de la culture aux deux heures. Cette nébulisation permet la formation de fines gouttelettes d'eau sur le feuillage, ce qui prévient la dessiccation, sans mouiller le milieu. La fréquence à laquelle la nébulisation est requise est déterminée par les conditions qui prévalent dans la serre et est grandement influencée par les conditions extérieures. Par temps frais et nuageux, la nébulisation est moins fréquemment requise, tandis que par temps chaud et ensoleillé, de cinq à six nébulisations par jour peuvent être nécessaires pour maintenir l'humidité relative au niveau désiré. Avec notre système, nous nébulisons toutes les deux heures durant le jour et toutes les quatre heures durant la nuit.

Avant la formation des racines, la principale cause de perte d'eau par le milieu est l'évaporation. Lorsque le milieu est arrosé à sa capacité de rétention ou légèrement au-dessus, le cal se forme bien et est suivi de la formation et de la croissance des racines. Par conséquent, on prendra grand soin de ne pas arroser excessivement pendant la phase d'enracinement. Lors de l'irrigation (arrosage), arroser suffisamment pour qu'une quantité d'eau dégoutte sous les plaques alvéolaires.

Chaleur et lumière

En hiver, l'enracinement est plus rapide à la lumière directe, mais en été, il faut de l'ombre pour réduire l'éclairement (environ 50 % de transmittance) (Phillion *et coll.* 1982). La lumière doit être suffisante pour que la photosynthèse puisse s'opérer. La gamme d'éclairement optimale pour l'enracinement se situe entre 300 et 1200 candela-pied tandis que des lampes DHI de 1000 Watt sont utilisées pour la croissance. Lorsque l'intensité lumineuse est réduite par ombrage, les températures ont tendance à diminuer, ce qui prévient l'endommagement des boutures et une évapotranspiration excessive. L'enracinement des boutures ne semble pas dépendre de la lumière ou de la longueur du jour.

NOTE : Nous utilisons un chauffage sous la table. Pour d'autres espèces, il a été bien documenté que de garder le milieu chaud favorise la croissance des racines, et il semble qu'il en soit de même avec l'if.

Assainissement

Le maintien d'une HR élevée et d'une température relativement élevée dans la serre procure un environnement favorable aux maladies. Inspecter régulièrement les boutures pour vérifier s'il y a pourriture basale, présence d'ennemis des cultures ou maladie. Enlever les boutures infectées ou mortes afin qu'elles ne soient pas une source d'infection pour les autres boutures. À moins d'employer une technique de sélection manuelle très stricte, un calendrier de traitement fongicide sera probablement nécessaire. Voici la description de deux des programmes d'application de fongicides que nous avons suivis et qui ont donné de bons résultats :

1) Programme hebdomadaire

   Des fongicides ont été appliqués hebdomadairement. L'application de ceux-ci a été entreprise immédiatement après leur mise en plaque alvéolaire. L'application de fongicides s'est poursuivie jusqu'au début du traitement par le froid, c.-à-d., autour de la fin décembre (voir la section sur l'endurcissement). Les cinq fongicides utilisés à tour de rôle étaient :

   le Benlate[MD] 50WP (DuPont Canada, (ON))
   le Maestro[MD] 80DF (Tomen Agro, Inc., San Francisco (CA), É-U)
   le Rovral[MD] (Rhône-Poulenc Canada Inc., (ON))
   le Thiram[MD] 80WP (Plant Products Co. Ltée., Brampton (ON))
   le Daconil[MD] 2787 (Fermenta ASC (OH) É-U)

   On doit utiliser les fongicides à tour de rôle pour s'assurer qu'il n'y a pas développement d'une résistance à ces agents.

2) Un autre programme d'application de fongicides, basé sur les recommandations de Doug Beaton et Brian White (ministère des Richesses naturelles de la N.-É.) a donné de bons résultats au SCF-CFA.

   Le fongicide biologique Mycostop[MD] (Biobest Canda Ltée, Leamington (ON)) a été appliqué aux trois semaines conformément aux recommandations sur l'étiquette, en intercalant avec les applications de Maestro 80DF, p. ex., Mycostop aux trois semaines, du Maestro 80DF une semaine et du Mycrostop aux trois semaines. Note : suivre le mode d'emploi sur l'étiquette : ne pas appliquer de Mycostop dans les 10 jours suivant l'application de Maestro 80DF. Le principal avantage de ce programme est qu'avec celui-ci, le traitement est, dit-on, bon pour six à neuf semaines, tandis que le traitement aux fongicides chimiques demande généralement une application aux sept à dix jours. De plus—nous ne l'avons pas encore observé dans nos études sur le *Taxus canadensis*—des doses élevées de fongicides ou des applications répétées de Maestro 80DF peuvent entraîner un développement racinaire anormal, et peuvent peut-être inhiber le développement racinaire (White 1983).

   Lors de l'application de Mycostop, enlever tous les filtres et appliquer avec une rampe d'arrosage en laissant le grillage sur cette dernière.

Survie hiémale la première année

Une fois le cal et (ou) les racines formé(es), on peut réduire la température, l'arrosage et l'éclairage dans la serre. Toutes les boutures ne seront pas enracinées, puisqu'il y a une grande variation dans la vitesse et le pourcentage d'enracinement d'un génotype à l'autre. Il sera donc nécessaire d'examiner les boutures et de « décider » du moment où un nombre suffisant de boutures auront atteint ce stade avant d'interrompre le chauffage et l'éclairage pendant le premier hiver.

Réduire graduellement (sur une période de 2 à 3 semaines) la température de la serre. Généralement, nous faisons subir aux boutures une période de refroidissement de 7 à 10 semaines pendant laquelle la serre est maintenue à 5°C. Pendant cette période, il n'y a aucun apport supplémentaire de lumière, et les contenants ne sont arrosés qu'au besoin.

Printemps et été de la deuxième année

Après la période de refroidissement, entreprendre le démarrage de la serre dans les conditions suivantes : 18°C la nuit et 22°C le jour, tout en maintenant une HR de 60 % et une photopériode de 16 à 18 heures. Commencer à appliquer un engrais de démarrage (p.ex., du 11-41-8) (engrais forestiers avec micronutriments de Plant Products Co., Brampton (ON)) à raison de 50 ppm N.

Une fois que la plupart des boutures ont produit des racines, vous pouvez augmenter la dose d'engrais de démarrage à 100 ppm N. Cette décision doit toutefois être basée sur le stade de développement de VOS plants. Si la formation du cal et des racines se fait bien à l'automne ou au début du printemps, continuer avec un engrais de croissance ordinaire (p. ex. du 20-8-20) à raison de 100 ppm N plutôt que d'accroître la dose d'engrais de démarrage.

NOTE : À un certain moment au milieu de la saison de croissance, le bourgeon terminal des boutures commencera probablement jaunir. Le cas échéant, augmenter la dose d'engrais de croissance à 150 ppm N et maintenir cette dose jusqu'au moment de l'aoûtage des boutures.

En commençant environ à la fin de juillet ou au début d'août, lessiver le milieu pendant deux semaines. Une fois le lessivage complété, appliquer un engrais de finition (p. ex., du 8-20-30) à raison de 35 ppm N pendant trois semaines supplémentaires.

Entreposage hivernal sous le point de congélation des boutures d'un an

L'entreposage hivernal sous le point de congélation est une des techniques utilisées dans plusieurs pépinières de conifères. Avec celle-ci, les semis de conifères sont d'abord « aoûtés » au moyen de techniques de culture bien établies. Une fois que les semis peuvent résister à une température de -20 °C, ils sont placés dans des sacs de plastique, mis en boîte, puis entreposés à une température sous le point de congélation. Cette technique permet de garder en dormance les semis entreposés considérablement plus longtemps en fin de printemps ou début d'été, au lieu de conserver les plants à l'extérieur. Étant donné que les ifs sont particulièrement sujets à l'endommagement par la gelée tardive printanière, en raison de leur tendance à développer de nouvelles pousses, il serait très avantageux de peaufiner cette technique pour les pépinières d'ifs; ceci permettrait de réduire l'endommagement des plants après plantation et de prolonger la saison de plantation. Cette technique donne de bons résultats depuis trois ans avec le *T. canadensis*. Bien que les boutures de *T. canadensis* se prêtent bien à la culture prolongée en serre, elles sont lentes en entrer en dormance. Par conséquent, une surveillance, un échantillonnage et des essais SONT BIEN NÉCESSAIRES pour confirmer qu'elles ont atteint la résistance au gel souhaitée. Il faudra probablement plus de temps à ces plants pour s'endurcir qu'à de nombreux autres conifères.

NOTE : Le feuillage *du Taxus* prend une couleur de pourpre à brune à l'automne, semblable à celle des jeunes semis de pin gris.

Résumé des recherches en cours

La plupart des recherches sur la multiplication en pépinière visent la réduction du temps requis pour produire une bouture racinée plantable. Les premières conclusions ont indiqué qu'il est possible de faire raciner des boutures de *T. canadensis* tard à l'automne, et de produire ainsi des boutures plantables pour l'été suivant. Ces dernières peuvent ensuite être plantées directement en champs ou en haies. En plus de réduire d'un an le temps entre le racinement et la plantation sur le terrain, cette technique devrait aussi améliorer le rendement tôt après la plantation.

Autres essais en pépinière

Le désherbage est un problème important dans une pépinière; dans nos études, il a été effectué uniquement à la main, ce qui est chronophage et coûteux. Nous avons mené deux essais d'utilisation d'herbicides à petite échelle afin d'offrir une alternative économique au désherbage manuel. Le *T. canadensis* est particulièrement sensible à une surpulvérisation d'herbicides comme le Vision[MD] (Monsanto Canada, Inc., Mississauga (ON)) (glyphosate). Après avoir examiner la liste des herbicides utilisés actuellement sur les *Taxus sp.* dans les pépinières commerciales des États-Unis, nous avons choisi de mener une série d'essais avec trois herbicides de cette liste qui sont homologués pour une utilisation au Canada sur les *Taxus* sp. Les résultats de ces essais feront l'objet d'un rapport lorsqu'ils seront disponibles.

Remerciements

Les recommandations exposées dans ce manuel découlent des résultats de nombreux essais d'enracinement effectués ces huit dernières années. Nous tenons à remercier les personnes suivantes de leur soutien technique : Shawn Farrell, Dan Flemming, Terry Hay, Fiona McBain-Hogg, Jay Phillips et Paula Stewart-Leblanc. La présente publication n'aurait pas pu voir le jour sans leur travail acharné. Nous remercions également Joe Lewis, gestionnaire de serre à la retraite du SCF-CFA. Plus récemment, de 2001 à 2003, nous avons reçu de l'appui financière de Napro BioTherapeutics Inc., de Boulder (Colorado), et depuis 2002 Chatham Biotec Ltd., de Moncton (N.B.) a appuyé financièrement ce projet permanent.

Bibliographie

Phillion, B.J., de Witt, J., et Bunting, W.R. 1982. Effect of light intensity on rooting juvenile black spruce cuttings. Nursery Notes No. 82, Ministère des Richesses naturelles de l'Ontario.

White, B. 1983. Production of highland black spruce from cuttings. Nova Scotia Department of Lands and Forests, Forest Technical Note # 7

Fongicides

Benlate 50WP (Benomyl 50 % n° CAS 17804-35-2) n° PCP 11062 (DuPont Canada, Mississauga (ON).) Dose : 2-3 kg/1000 L/ha

Maestro 80DF (Captan 80 % n° CAS 133-06-2) n° PCP 26408 (Tomen Agro Inc. San Francisco (CA) É-U). Dose : 1,25 kg/1000 L eau, appliquer à raison de 50-85 L/100 m^2

Rovral 50W (Iprodione 500 g/kg n° CAS 36734-19-7) n° PCP 15213 (Rhône-Poulenc Canada Inc., Mississauga (ON).) Dose : 1,5-2 kg/ha dans 1100 L d'eau/ha

Thiram 80WP (thiram 80 % n° CAS 137-26-8) n° PCP 9871 (Plant Products Co. Ltée., Brampton (ON).) Dose : 250 g/100 m^2

Daconil 2787 (Chlorothalonil 40,4 % n° CAS 1897-45-6) n° PCP 15 724 (Fermenta ASC, Mentor (OH) É-U). Dose: 2,4-4,8 l/100-1000 L/ha

Papier fabriqué sans acide
Imprimé sur du
papier recyclé

Printed on
recycled paper
Paper manufactured acid-free

PRINTED IN CANADA
IMPRIMÉ AU CANADA

Canada